

## SÍNTESIS DE MICROESFERAS DE QUITOSANO PARA ENCAPSULAR Y LIBERAR FERTILIZANTE

Jimena Dima (1,2), Cynthia Sequeiros (1), Noemi Zaritzky(1,3)

<sup>(1)</sup> Centro para el estudio de Sistemas Marinos (CCT CECIMAR -CENPAT-CONICET). Puerto Madryn, Chubut, Argentina. <sup>(2)</sup> Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA -CONICET- UNLP). Calle 47 y 116 La Plata (1900) Argentina; <sup>(3)</sup> Depto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.  
zaritzkynoemi@gmail.com, jimenabdima@gmail.com

### RESUMEN

La urea es un fertilizante que constituye una importante fuente de nitrógeno para los cultivos. Sin embargo no es tan estable como otros fertilizantes nitrogenados sólidos y se descompone a temperatura ambiente, en particular en una atmósfera húmeda, liberando amoníaco y dióxido de carbono lo que provoca pérdidas del fertilizante contribuyendo a la contaminación ambiental. En el presente trabajo se sintetizaron microesferas de quitosano (obtenido de los exosqueletos de crustáceos de descartes pesqueros) con el fin de encapsular urea y evaluar la liberación de la misma en contacto con agua durante diferentes períodos de tiempo. Para ello, se preparó una solución de quitosano 1% en ácido acético. Por goteo se adicionó dicha solución, a una solución de: i) TPP/Urea a diferentes concentraciones de la misma (1, 2 y 3%) y ii) NaOH 1% en etanol al 26% con iguales concentraciones de urea. Las esferas sintetizadas con QS-NaOH /urea, resultaron geles mas estables y con mayor rendimiento de encapsulación. Asimismo, en el caso en que se utilizó NaOH para la síntesis de esferas de QS el valor de nitrógeno ureico disminuyó en un 39,5,% en las primeras 6 h, manteniéndose estables durante 48h.

### INTRODUCCION

#### Quitosano y la situación regional

Las ciudades de Puerto Madryn y Rawson de la provincia del Chubut, (Patagonia-Argentina), representan unas de las principales ciudades de desembarcos y procesamiento de crustáceos. En los últimos 6 años las capturas de crustáceos, especialmente langostinos, se vienen incrementando ampliamente (Minagri, 2015) alcanzando solo en los puertos de Madryn y Rawson 70000tn/año en el año 2014-2015; a estas especies deben sumarse la pesca de centolla (menos importante), y los cangrejos industrializados incipientemente por las flotas artesanales de estas ciudades, pero que representan varias toneladas anuales.

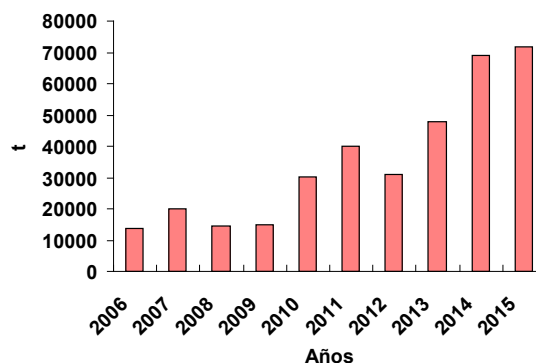


Figura 1. Desembarcos de Langostinos toneladas/año ciudades de Puerto Madryn y Rawson

Durante el procesamiento de estas especies, para la extracción del músculo comestible se generan sólidos de difícil disposición (exosqueletos), característicos de todos los crustáceos. Estos exosqueletos se acumulan actualmente en basurales constituyendo un verdadero contaminante de negativo impacto ambiental para la región. Es así que el problema de la generación de desechos industriales producidos por las industrias pesqueras, han contribuido a incrementar el interés por la búsqueda de opciones de reducción y de aprovechamiento de dichos residuos, adquiriendo mayor relevancia la incorporación de procesos de gestión ambiental. El exoesqueleto residual de la remoción de carne y vísceras, representa entre un 35% y 50% del peso total individuo (Dima, 2013). Sin embargo, estos exoesqueletos tienen una composición rica en componentes de gran importancia como la quitina (segundo polisacárido más abundante después de la celulosa). La quitina contenida en esta biomasa desechable es un componente clave ya que a partir del procesamiento de la misma se obtienen derivados de gran importancia como el quitosano.

El quitosano (QS) es un polisacárido lineal y se prepara por desacetilación de los grupos acetamida de la quitina. Está formado por cadenas de  $\beta$ -(1-4) D-glucosamina (unidades desacetiladas) y N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilada). Es un biopolímero de gran interés debido a sus múltiples aplicaciones en las áreas de alimentos, farmacéutica, de tratamiento de aguas, medicina etc. El QS es biocompatible, biodegradable, no tóxico. Su principal diferencia con la quitina es la presencia de grupos amino ( $-NH_2$ ) que le confieren un carácter de polielectrolito catiónico natural en medio ácido con importantes implicaciones tecnológicas (Rinaudo, 2006). Debido a estas propiedades únicas, es considerado como un polímero versátil que puede presentarse en diferentes formas, en escamas, polvo, como geles, films, nano/micro partículas, etc. y usarse en numerosas aplicaciones en varios campos como la industria de los alimentos, industria farmacéutica, biotecnología, agricultura, etc.

### **Uso de matrices de quitosano para la liberación controlada de fertilizantes**

El nitrógeno es una de las fuentes de nutrición vegetal más ampliamente utilizadas a nivel mundial, es por ello que el desarrollo de nuevas tecnologías, tiende a buscar formas de mejorar la eficiencia en su utilización. Un cultivo deficiente en nitrógeno no puede hacer un óptimo uso de la luz solar, por lo que se ve afectada la capacidad de aprovechamiento y absorción de nutrientes, limitando su crecimiento y desarrollo adecuado. Un fertilizante sintético que constituye una importante fuente de nitrógeno para los cultivos es la urea (carbonildiamida); es un fertilizante químico de origen orgánico y su estructura química corresponde a una carbamida  $(NH_2)_2C=O$ . Entre los fertilizantes sólidos, constituye la fuente nitrogenada de mayor concentración (46%). El costo de producción de urea es relativamente bajo y es un producto estable y sin riesgos durante su almacenamiento. Por otra parte la urea es muy soluble en agua y es higroscópica; no es tan estable como otros fertilizantes nitrogenados sólidos. Se descompone incluso a temperatura ambiente, en particular en una atmósfera húmeda, liberando amoníaco y dióxido de carbono. Esto provoca pérdidas graves del fertilizante. Cuando la urea se aplica al suelo, rápidamente se hidroliza a amoníaco en una reacción catalizada por la enzima ureasa. Cuanto más rápido se produce la hidrólisis de urea, más alta es la concentración de  $NH_3$  el cual puede perderse en la atmósfera. El  $NH_3$  se convierte parcialmente en amonio ( $NH_4^+$ ) y ambos pueden provocar daños en las semillas en germinación. Por otro lado, una alta proporción del fertilizante aplicado se pierde contribuyendo a una contaminación ambiental severa, que incluye degradación de los suelos y de las fuentes de agua, eutrofización de los ecosistemas marítimos, aumento de la concentración global del gas de efecto invernadero, así como acidificación de los suelos (Hamid *et al.*, 2013 Aguilar Ráquira, 2014).

Se han investigado a nivel internacional diversas estrategias para la obtención de fertilizantes de nitrógeno estabilizados. En los últimos años, los productos de

liberación controlada de sustancias activas han cobrado especial interés en el campo de los agroquímicos. Hoy en día, la aplicación de estos productos en el área agrícola, se está diversificando, siendo utilizada en fertilizantes, pesticidas, insecticidas, entre otros (Palma *et al.*, 2005, Velásquez, 2008). La liberación controlada permite proporcionar la cantidad de fertilizante correcta, en el lugar adecuado y durante el tiempo conveniente. Además minimiza, y en algunos casos evita que se alcancen concentraciones que pueden resultar tóxicas para las plantas (Palma *et al.*, 2005 Velásquez, 2008). Todo esto va acompañado de una disminución del daño ambiental al evitar altas dosis de los mismos. Los sistemas de liberación controlada utilizando biopolímeros como recubrimiento o en matrices reticuladas, son un importante campo de investigación a nivel internacional debido a que son ambientalmente amigables (Azeem *et al.*, 2014). Las microesferas y microcápsulas de quitosano pueden constituirse en un sistema de liberación controlada adecuado para fertilizantes nitrogenados. El uso de sistemas micro/nanoparticulados permite el transporte de sustancias químicas a lugares específicos de acción, el incremento de su vida media y su liberación controlada en el tiempo. La liberación controlada de sistemas particulados a base de QS depende de la densidad de la matriz polimérica, así mediante la variación de la concentración del mismo y su peso molecular, e incorporando copolímeros y agentes entrecruzantes se pueden obtener sistemas de encapsulación con un perfil de liberación adecuadas para cada caso (Tadros, 2009; Trenkel, 2010). En este sentido, la liberación sostenida en el tiempo de fertilizante, es una de las metas a lograr en la agricultura debido a que ésta puede permitir tomar el control de varios problemas.

El objetivo del presente trabajo es realizar una primera evaluación de la eficiencia de las matrices de quitosano en la encapsulación de urea

## METODOLOGÍA

**Obtención de quitosano:** El mismo se sintetizó a partir de descartes de exosqueletos de langostinos según Dima y col, 2015. Para la obtención de quitina los exosqueletos molidos fueron despigmentados, descalcificados y desproteinizados. Para la obtención de quitosano la quitina fue desacetilada con NaOH al 50% a 120°C. Asimismo se caracterizó según su grado de desacetilación (método potenciométrico y espectroscopía infrarroja (FTIR) y el peso molecular por viscosimetría capilar según la ecuación de Mark-Houwink.

### Síntesis de Microesferas de quitosano (QS)

**Sistema A que utiliza urea disuelta en QS:** Se preparó una solución de quitosano al 1% en ácido acético (pH= 4,3), a la cual se le agregaron diferentes concentraciones de urea (1; 1,5 y 2%). Por medio de una jeringa, se agregó gota a gota la solución de QS/urea a una solución de: **i)** TPP (1%) o **ii)** NaOH-etanol (1N).

**Sistema B que utiliza urea en solución:** Se preparó una solución de quitosano 1% en ácido acético (pH = 4,3) sin agregado de urea. Por medio de una jeringa se adicionó dicha solución, gota a gota, a una solución de: **I)** TPP/Urea a diferentes concentraciones de la misma (1, 2 y 3%) y **II)** NaOH 1% en etanol al 26% con iguales concentraciones de urea. En todos los casos se agregaron 2 ml de la solución conteniendo QS a 20 ml de solución receptora, bajo agitación suave a temperatura ambiente. Al entrar en contacto el QS con la solución se formaron microesferas. Éstas se filtraron, enjuagaron con agua destilada y se liofilizaron (Fig 2).

En ambos sistemas se sintetizaron esferas que no contenían urea las cuales se consideraron como controles. La concentración de nitrógeno en las microesferas se determinó utilizando un analizador elemental de C y N (CHN628 Series Elemental Analysis LECO). La concentración de urea encapsulada en las microesferas se

expresó como gramos de Urea por g de QS (gU/gQS). Asimismo, se realizaron observaciones por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

**Estudios de liberación de Urea en el tiempo:** Una vez liofilizadas las cápsulas y cuantificado el valor inicial de urea, se realizó un estudio de liberación de la misma en agua a lo largo del tiempo. Para ambos métodos de síntesis, las microesferas liofilizadas se colocaron en 20 ml de agua destilada. A diferentes tiempos de contacto (3, 6, 12, 24, 48 y 72h) las esferas se recolectaron, se midieron sus tamaño (grado de hinchamiento) y contenido de Nitrógeno (Fig 2).



Figura 2 a) Microesferas de QS en TPP, b) Microesferas de QS-TPP liofilizadas, c) Microesferas de QS-TPP liofilizadas y rehidratadas 6 h en agua

## RESULTADOS

### Obtención y caracterización de Quitina y Quitosano

La quitina extraída de exoesqueletos de langostinos triturados, descarbonatados y desproteinizados resultó del 22.8%. El quitosano obtenido luego de la desacetilación fue de un 78.8% de la quitina inicial; los valores de rendimiento pueden variar según la época del año, estado de la materia prima, especie, tamaño, entre otras variables características de los exoesqueletos de crustáceos. El peso molecular era de  $1.46 \times 10^5$  Da y el grado de desacetilación mayor al 88% (Dima y col, 2015).

### Efectividad de las Microesferas de quitosano para la encapsulación de urea:

En el Sistema A en el cual se utilizó urea disuelta en quitosano, la mejor eficiencia de encapsulación se observó para las esferas de QS/urea al 2% en solución de NaOH, con un valor de 0,051g U/gQS.

Para el Sistema B (I y II) en el que la urea no se hallaba disuelta en la solución de QS se observó que la eficiencia de encapsulación se incrementó con el aumento de la concentración de urea en la solución. La misma fue más alta que en el sistema A, y varió de 0,10 a 0,30 gU/gQS para la matriz de QS-TPP/urea (I) y de 0,29 a 0,82 gU/gQS para la matriz de QS-NaOH/urea (II) cuando se usaron concentraciones de urea entre 1 y 3% (Fig 3).

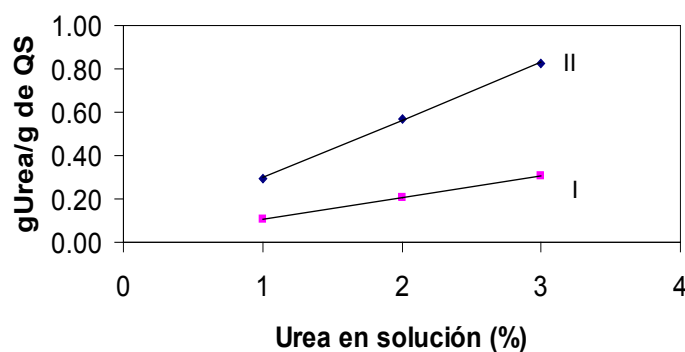


Figura 3. Encapsulación de urea en quitosano (gUrea/g de QS) en función de la concentración de urea inicial en la solución receptora: Sistema B (I) QS-TPP/urea y Sistema B (II) QS -NaOH/Urea.

En todos los casos el diámetro de la esfera formada fue de 2 mm. Una vez liofilizadas, las microesferas disminuyeron su tamaño en un 72%. Las esferas formadas con TPP (Sistema B (I)) resultaron menos estables, menos homogéneas y de fácil rotura. La menor eficiencia de encapsulación de nitrógeno en la matriz con TPP podría deberse a una competencia entre el TPP (con carga negativa) y la urea por los grupos positivos del QS.

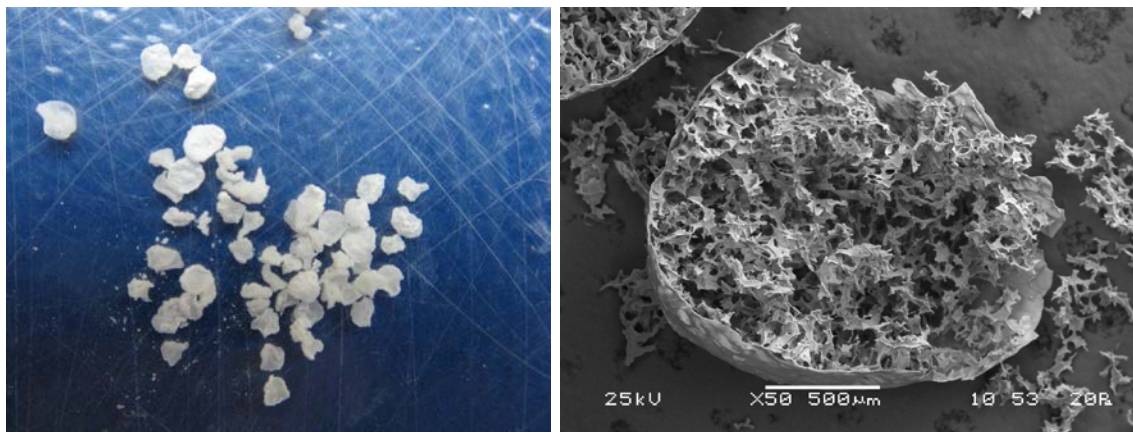


Figura 4. Sistema B (I): A) Microesferas de TPP liofilizadas. B) Micrografía SEM de la parte interna de las microesferas de QS en TPP.

#### Liberación de urea en agua

El sistema B con mayor eficiencia de encapsulación fue seleccionado para realizar el ensayo de liberación de nitrógeno a partir de urea. En el caso en que se utilizaron microesferas sintetizadas por medio de QS-TPP/urea (sistema B (I)), el valor de nitrógeno ureico disminuyó en un 55,6% (con respecto al valor inicial) en las primeras 6h y un 75% a las 48h de contacto con el agua. En el caso en que se utilizó el sistema B (II), QS-NaOH/urea, el valor de nitrógeno ureico disminuyó en un 39,5% en las primeras 6 h, manteniéndose estables durante 48h (Fig 5), lo cual puede atribuirse a la mayor estabilidad de los geles.

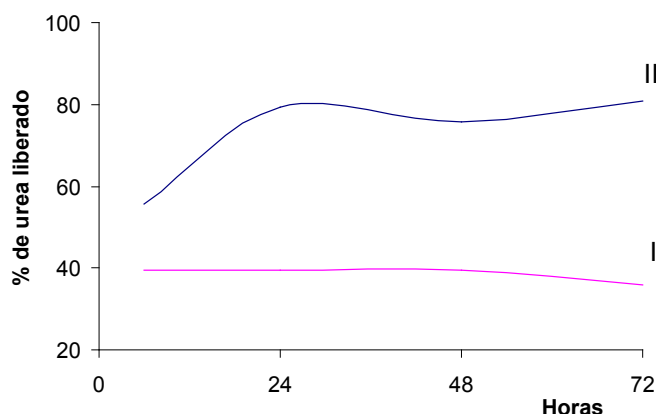


Figura 5. Porcentaje de urea liberada en agua en función del tiempo en los sistemas: Sistema B (I) QS/ Urea-TPP y Sistema B (II) QS/Urea-NaOH



## CONCLUSIONES

El sistema A (urea disuelta en quitosano) resultó en una muy baja eficiencia de encapsulación. Esta eficiencia se incrementó cuando se disolvió la urea en la solución receptora (TPP o NaOH) correspondientes a los sistemas B (I) y (II), respectivamente. Si bien, el quitosano resultó efectivo en la encapsulación de urea, la eficiencia varió considerablemente según la concentración inicial del material nitrogenado y las combinaciones y soluciones elegidas para la síntesis de las microesferas, obteniéndose geles de variada estabilidad.

El presente trabajo, aporta un estudio preliminar del uso del QS en la elaboración de matrices de liberación controlada de urea. Un estudio profundo de estas temáticas permitirá por un lado realizar aportes en el área de la obtención de productos en base a quitosano a partir de materiales actualmente descartados por las industrias pesqueras, y por otro, contribuir al desarrollo de tecnologías ligadas a la protección del medio ambiente, en este caso a la mejora de los suelos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar Ráquira, I. (2014). Preparación y evaluación en suelo de fertilizantes de liberación controlada cubiertos con polímeros biodegradables. Tesis Magíster en Ciencias Químicas Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de Química Bogotá D.C., Colombia
- Azeem, B., KuShaari, K., Man, Z. B., Basit, A., & Thanh, T. H. (2014). Review on materials & methods to produce controlled release coated urea fertilizer. *Journal of Controlled Release*, 181, 11-21.
- Dima, Jimena, Sequeiros C, Zaritzky N, (2015). Hexavalent chromium removal in contaminated water using reticulated chitosan micro/ nanoparticles from seafood processing wastes *Chemosphere* 141, 100 - 111
- Dima, J.B. (2013). Tesis Doctoral. "Procesamiento integral de las especies patagónicas de cangrejos marinos de valor comercial *Ovalipes trimaculatus* y *Platyxanthus patagonicus*".
- Hamid, N. N. A., Mohamad, N., Hing, L. Y., Dimin, M. F., Azam, M. A., Hassan, M. H. C., & Ahmad, A. S. (2013). The effect of chitosan content to physical and degradation properties of biodegradable urea fertilizer. *Journal of Scientific and Innovative Research*, 2(5), 893-902.
- Ministerio de Agroindustrias de la Nación (Minagri, 2015). [www.minagri.gob.ar](http://www.minagri.gob.ar) / [www.agroindustria.gob.ar](http://www.agroindustria.gob.ar)
- Palma, G., Casals, P., & Cardenas, G. (2005). Synthesis and characterization of new chitosan-O-ethyl phosphonate. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 50(4), 719-724.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603-632.
- Tadros, T.F. (2009) Controlled-release Formulations. En: Colloids in Agrochemicals, Colloids and Interface Science Series: Vol. 5, WILEY-VCH. Chapter 12, pp. 235-245.
- Trenkel, M.E. (2010) Slow- and Controlled-Release and Stabilized Fertilizers: An Option for Enhancing Nutrient Use Efficiency in Agriculture. International Fertilizer Industry Association (IFA). Paris, France
- Velásquez, C.L. (2008) Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. *Revista UDO Agrícola*, 8(1), 1-22.